

蓝萼香茶菜提取液抑菌作用研究

Study on Bacteriostasis of the Extracts of *Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara

金忠民, 沙伟*, 胡修茵

JIN Zhong-min, SHA Wei*, HU Xiu-yin

(齐齐哈尔大学生命科学与工程学院, 黑龙江齐齐哈尔, 161006)

(Life Science and Engineering College, Qiqihaer University, Qiqihaer, Heilongjiang, 161006, China)

摘要: 分别以无水乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷、蒸馏水和丙酮作为提取剂, 用回流提取的方式提取蓝萼香茶菜 [*Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara] 的 5 种提取液, 分别采用滤纸片法和平板稀释法测定提取液对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、米曲菌的抑菌效力及最低抑菌浓度 (MIC)。结果显示, 5 种提取液对实验菌均有抑菌作用, 对 4 种致病菌的 MIC 的排列顺序为: 无水乙醇提取液 < 三氯甲烷提取液 < 丙酮提取液 < 乙酸乙酯提取液 < 蒸馏水提取液。

关键词: 蓝萼香茶菜 提取液 抑菌作用

中图分类号: Q949.777.6 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2007)02-0160-03

Abstract: We used pure alcohol, ethyl acetate, chlorpicrin, distilled water, and acetone as extractant respectively to extract *Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara. Backflow extraction with filter paper or flat dilution is used. The antibacterial activity and the minimum inhibition concentration (MIC) was performed. The result showed that the five kinds of extract have the antimicrobial function, to four kinds of pathogenic bacteria's MIC order of rank is: The absolute alcohol to extract < the chlorpicrin to extract < the acetone to extract < the ethyl acetate to extract < the distilled water to extract.

Key words: *Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara, extract, bacteriostasis

蓝萼香茶菜 [*Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara] 为唇形科香茶菜属植物。香茶菜属植物分布在热带非洲至热带亚洲至亚热带亚洲, 在亚洲北达日本和前苏联远东地区, 少数种产马来西亚至澳大利亚及太平洋岛屿和南非; 在我国广布南北各地, 以西南为主^[1]。全世界香茶菜属植物大约有 150 种, 我国共有 90 种、25 变种, 植物资源非常丰富^[2]。香茶菜属约有 30 种原植物在民间作药用, 其生物活性物质是二萜类化合物, 具有清热解毒、活血化瘀、抗菌消炎、抗肿瘤、治疗各种肝炎等功效, 对各种癌症患者有缓解症状的作用^[3,4]。蓝萼香茶菜除具有清热解毒、健胃、治疗乳痛、肝炎、感冒发烧、

关节痛和蛇虫咬伤等功能外, 还是很好的秋季蜜源植物^[5~9]。到目前为止, 对于蓝萼香茶菜的研究国内外报道较多, 但大多为其化学结构、化学成分及药用功效的研究, 有关蓝萼香茶菜提取液抑菌作用的研究尚未见报道。

寻找安全有效的天然防腐保鲜剂是目前国内外研究的热点。本实验通过用各种不同的提取剂以回流提取的方式提取蓝萼香茶菜的有效成分, 研究各不同提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌和米曲菌是否有抑制作用, 并确定出蓝萼香茶菜对这些菌的最低抑菌浓度 (MIC), 为该属植物的开发利用提供新的途径。

收稿日期: 2005-11-07

修回日期: 2006-03-20

作者简介: 金忠民 (1968-), 女, 硕士, 主要从事植物学的教学和研究工作。

* 通讯作者。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种及来源

大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphyococcus aureus*)、变形杆菌 (*Proteus vulgaris*) 和米曲菌 (*Aspergillus oryzae*) 由齐齐哈尔第二医院微生物实验室提供。

1.1.2 蓝萼香茶菜

本实验所用蓝萼香茶菜采自内蒙古扎兰屯市东山。

1.1.3 培养基^[10]

牛肉膏蛋白胨琼脂培养基用于培养大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌;马铃薯培养基用于培养米曲菌。

1.2 实验方法

1.2.1 蓝萼香茶菜提取液的提取

取蓝萼香茶菜新鲜叶片约 10 g,用电子天平准确称量后,剪碎,用滤纸包好,置于回流提取器内,以无水乙醇为提取剂,以流水冷凝,在 90℃水浴锅内回流提取 3 h,将得到的提取液浓缩至 100 ml,得到无水乙醇提取液^[11]。同样的方法分别以乙酸乙酯、三氯甲烷、蒸馏水、丙酮作为提取剂,则分别得到乙酸乙酯提取液、三氯甲烷提取液、蒸馏水提取液、丙酮提取液(以原料质量计,含量相当于 0.1 g/ml),即得五种蓝萼香茶菜提取原液。各提取液都于真空干燥箱中烘干,所得干物质用电子天平准确称量,然后分别稀释成 2%、4%、6.25%、10%、12.5%、25%、50%、80% 八个稀释度。

1.2.2 供试菌株的活化

在无菌操作台中,将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌接种至牛肉膏蛋白胨培养基上,置 35~37℃恒温培养箱内培养 24 h,米曲菌接种至马铃薯培养基,置 28~30℃恒温培养箱内培养 48 h,每种接多支重复^[12]。每种菌取 2 支供测试用,其余置 0~4℃冷藏备用。

1.2.3 菌悬液的制备

在无菌操作台中,将接种环在火焰上灼烧几次,挑取少许菌苔于装有 9 ml 无菌水的试管中,混匀,制成菌悬浮液。调整菌悬浮液的浓度至含孢子或菌体为 $10^6 \sim 10^7$ 个/ml^[11],备用。

1.2.4 抑菌效力测定——滤纸片法

用打孔器将滤纸打成直径 11 mm 的滤纸片,高压灭菌后,分别浸泡于各提取液中过夜。另取一些滤纸片浸泡于相应提取溶剂内过夜,作为对照。

将固体培养基高温灭菌后倒入平皿,待冷却凝固后,分别加入 0.2 ml 供试菌液,用无菌棒涂布均匀。用无菌镊子夹取浸透各提取液的滤纸片,贴在含菌培养基的表面,每皿 5 片。每种提取液设置一个对照,设 3 个重复。倒置于恒温箱内培养(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌采用 35~37℃培养 24 h,米曲菌采用 28~30℃培养 48 h)。测量抑菌圈的大小。

1.2.5 MIC 测定——平板稀释法

在各个平皿内分别加入 2 ml 不同浓度稀释后的提取液,每个浓度重复三个平皿。向各培养皿内倒入 15~20 ml 培养基,轻轻摇动使其充分混匀。待冷却凝固后,每皿加入 0.2 ml 菌悬液涂匀培养(方法同上)。取出观察结果,以不长菌的各提取液浓度为最小抑菌浓度^[13],用蒸馏水作对照,记为 CK。

2 结果与分析

2.1 蓝萼香茶菜提取液浓度

不同的提取剂回流提取得到蓝萼香茶菜提取液的浓度以无水乙醇提取液最高,为 6.990 mg/ml,蒸馏水提取液为 6.230 mg/ml,丙酮提取液为 3.820 mg/ml,三氯甲烷提取液为 1.060 mg/ml,而乙酸乙酯得到的提取液中溶质最少,浓度仅为 0.790 mg/ml。

2.2 抑菌效力测定结果

如表 1 所示,蓝萼香茶菜的 5 种提取液,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌和米曲菌均有抑制作用,具有广谱抗菌效力。对革兰氏阴性菌(大肠杆菌和变形杆菌)的抑制作用明显优于革兰氏阳性菌(金

表 1 蓝萼香茶菜提取液的抑菌效力
Table 1 The antimicrobial effects of the original liquid extracted from *Isodon japoni* (Burm. f.) Hara var. *glaucocalyx* (Maxim.) Hara

样品 Sample	抑菌圈直径* The diameter of the antimicrobial circle(mm)			
	米曲菌 Aspergillus oryzae	大肠 杆菌 Escherichia coli	金黄色 葡萄球菌 Staphyococcus aureus	变形杆菌 Proteus vulgaris
无水乙醇提取液 Absolute alcohol	3.4	3.6	3.3	4.6
蒸馏水提取液 Distilled water	2.1	2.2	1.9	2.3
丙酮提取液 Acetone	2.0	2.3	2.5	2.9
乙酸乙酯提取液 Ethyl acetone	2.3	2.3	2.0	3.2
三氯甲烷提取液 Chlorpicrin	5.4	5.3	4.9	5.8

* 抑菌圈直径为总抑菌圈直径减去对照后的结果。The diameter of the antimicrobial circle is the result of CK subtract from the diameter of the general antimicrobial circle

黄色葡萄球菌)。对于这四种菌,三氯甲烷提取液的抑菌效果最强,抑菌圈边缘清晰,空白对照较小,有可取性,但三氯甲烷毒性较大。无水乙醇提取液的抑菌效果较为明显,其空白对照较小,有可取性,且乙醇毒性小、价廉、易挥发,是一种理想的提取剂。

2.3 MIC 测定结果

表 2 结果表明在相同的作用时间内,同一种提取液

表 2 蓝萼香茶菜提取液对四种菌的最小抑菌浓度(MIC)
Table 2 The MIC test for 4 kind of bacterium by the extracted from *Isodon japonica* (Burm. f.) Hara var. *glaucoalyx*(Maxim.) Hara

样品名称 Sample	浓度 Content (%)	米曲菌 Aspergillus oryzae		大肠杆菌 Escherichia coli		金小球菌 Staphylococcus aureus		变形杆菌 Proteus vulgaris	
		生长	MIC	生长	MIC	生长	MIC	生长	MIC
		Growth		Growth		Growth		Growth	
无水乙醇 提取液 Absolute alcohol	2	+++		+++		++		+	
	4	++		++		++		+	
	6.25	++		++		+		-	6.25
	10	++		+		+		-	
	12.5	+		+		+		-	
	25	-	25	-	25	-	25	-	
	50	-		-		-		-	
	80	-		-		-		-	
三氯甲烷 提取液 Chlorpicrin	2	+++		+++		++++		++++	
	4	+++		+++		++++		++++	
	6.25	++		+		+++		+++	
	10	++		-	10	++		+++	
	12.5	+		-		+		++	
	25	-	25	-		-	25	+	
	50	-		-		-		-	50
	80	-		-		-		-	
丙酮 提取液 Acetone	2	++		++++		++++		++++	
	4	++		++++		++++		++++	
	6.25	+		+++		++++		++++	
	10	-		++		++++		++++	
	12.5	-	10	-	12.5	++++		++++	
	25	-		-		++		+++	
	50	-		-		++		++	
	80	-		-		-	80	-	80
乙酸乙酯 提取液 Ethyl acetone	2	+++		++++		++++		++++	
	4	+++		++++		++++		++++	
	6.25	+++		+++		+++		+++	
	10	++		+++		+++		+++	
	12.5	+	50	+++	80	++	50	+	25
	25	+		++		+		-	
	50	-		+		-		-	
	80	-		-		-		-	
蒸馏水 提取液 Distilled water	2	++++		++++		++++		++++	
	4	++++		++++		++++		++++	
	6.25	++++		++++		++++		++++	
	10	+++		+++		+++		+++	
	12.5	+++	80	+++	80	++		+++	
	25	+++		+++		++		+	
	50	+		+		-	50	-	50
	80	-		-		-		-	
CK			+++		++++		++++		+++

++++表示大量菌落生长,+++表示中等数量菌落生长,++表示少量菌落生长,+表示极少菌落生长,-表示无菌落生长。

++++ Show mass of colony, +++ Show contrast mass of colony, ++ Show little of colony, + Show less of colony, - Show lack of colony.

液的浓度越高,抑菌作用越大。无水乙醇提取液对变形杆菌有最低的抑菌浓度为 6.25%,对其他三种菌的抑菌浓度皆为 25%;三氯甲烷提取液和丙酮提取液对大肠杆菌和米曲菌有较低的抑菌浓度。不同提取液对四种致病菌的抗菌作用比较,MIC 的排列顺序为:无水乙醇提取液<三氯甲烷提取液<丙酮提取液<乙酸乙酯提取液<蒸馏水提取物。对照有大量菌落生长,表明蓝萼香茶菜提取液的抑菌效力来自本身的活性成分。

3 结束语

蓝萼香茶菜的不同提取液都有一定的抑菌作用,无水乙醇提取液对四种菌的抑制作用较强。蓝萼香茶菜提取液有效成分为一些二萜类化合物、蓝萼甲素,三萜、甾醇、脂肪酸,少量黄酮、倍半萜等,不同类型的化学成分的药理协同作用可能是本属植物产生多种功效的主要原因^[14]。

参考文献:

- [1] 吴征镒,李锡文.论唇形科的进化与分布[J].云南植物研究,1982,2:97-118.
- [2] 程培元,郭跃伟,许美娟.香茶菜属植物的研究概况及药用前景展望[J].中药通报,1987,12:707-711.
- [3] 黄缙.华东地区的香茶菜属药用植物[J].植物杂志,2000,2:12-13.
- [4] FUJI-K, NODE-M, ITO-N, et al. Terpenoids L Antitumor activity of diterpenoids from *Rabdosis shikokiana* var. *occidentalis* [J]. Chemical-and-Pharmaceutical-Bulletin, 1985, 33(3): 1038-1042.
- [5] 金永日,桂明玉,王宝珍.蓝萼香茶菜根化学成分研究[J].中国中药杂志,2000,25(11):678-679.
- [6] 桂明玉,金永日,王宝珍.蓝萼香茶菜化学成分研究[J].中国药学杂志,1999,34(8):516-518.
- [7] 桂明玉,金永日,刘松艳.蓝萼香茶菜化学成分研究 II [J].中国药学杂志,2000,35(6):374-375.
- [8] 赵金成,李春生.蓝萼香茶菜化学成分研究[J].中药通报,1987,12(5):38.
- [9] 薛运波.秋季蜜粉源植物-蓝萼香茶菜[J].养蜂科技,1996,5:35-36.
- [10] 沈萍,范秀容,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,50-72.
- [11] 朱正良,樊建,赵天瑞,等.青刺果提取液的抑菌对比研究[J].云南师范大学学报,2002,11:49-54.
- [12] 吕源玲,王洪新.黄荆叶提取液抑菌作用的研究[J].中国食品添加剂,2003,3:24-26.
- [13] 许钢,张红.竹叶、六月霜提取物抑菌作用比较研究[J].食品科技,2001,6:38-39.
- [14] 杨秀伟,赵静.蓝萼香茶菜的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2003,15(6):490-493.

(责任编辑:韦廷宗)